مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۲، شماره ۴، سال ۱۳۹۵

واکنش تعدادی از ژنوتیپ‌های نخود نسبت به نژادهای قارچ *Ascochyta rabiei* عامل بیماری سوختگی آسکوکیتایی (Ascochyta blight) در گلخانه

Response of some Chickpea Genotypes to Races of *Ascochyta rabiei* Cause of Ascochyta Blight in Greenhouse

داریوش شهریاری[۱]، محمد ترابی[۲] و سمیه کنگرلو[۳]

۱ و ۳- به ترتیب استادیار و کارشناس ارشد، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ورامین، ایران

۲- استاد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین- پیشوا، دانشکده کشاورزی، گروه بیماری شناسی گیاهی، ورامین، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۳/۲۸   تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۲۵

چکیده

شهریاری، د.، ترابی، م. و کنگرلو، س. ۱۳۹۵. واکنش تعدادی از ژنوتیپ‌های نخود نسبت به نژادهای قارچ *Ascochyta rabiei* عامل بیماری سوختگی آسکوکیتایی (Ascochyta blight) در گلخانه. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۲: ۴۹۲- ۴۷۹.**

بیماری سوختگی اسکوکیتایی در اثر قارچ *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. مهم‌ترین بیماری نخود معمولی در دنیا و ایران است. آگاهی از نژادهای عامل بیماری در هر منطقه برای دستیابی به ارقام مقاوم ضروری است. در این تحقیق نژادهای فیزیولوژیک ۲۸جدایه *A. rabiei* که در سال‌های ۱۳۹۲و۱۳۹۳ از پنج ناحیه استان کرمانشاه جمع‌آوری و خالص‌سازی شده بودند، با استفاده از هفت رقم افتراقی نخود بررسی و در نهایت در شش نژاد فیزیولوژیک گروه‌بندی شد. هفت جدایه (۲۵٪) متعلق به نژاد ۱، پنج جدایه (۱۷/۸٪) متعلق به نژاد ۲، هفت جدایه (۲۵٪) متعلق به نژاد ۳، چهار جدایه (۱۴/۴٪) متعلق به نژاد ۴، دو جدایه (۷/۲٪) متعلق به نژاد ۵ و سه جدایه (۱۰/۶٪) متعلق به نژاد ۶ بودند. نژادهای۳،۲،۱و۴ با ۲۳جدایه (۸۲/۱٪) در تمامی نواحی استان پراکنده بودند، در حالی که نژاد۶ با قدرت بیماریزایی بالا فقط در سرارود مشاهده شد. برای ارزیابی مقاومت در گلخانه، ۴۸ ژنوتیپ نخود شامل ارقام متداول کشت، لاین‌های پیشرفته برنامه به‌نژادی و توده‌های بومی با اسپورهای شش نژاد قارچ مایه‌زنی شدند، یادداشت برداری از تیپ آلودگی و واکنش ژنوتیپ‌ها دوازده روز بعد از مایه‌زنی با الگوی ۹-۱ انجام شد. براساس نتایج، بیشتر ارقام یا ژنوتیپ‌ها نسبت به نژادهای عامل بیماری حساس بودند. ارقام عادل و آزاد که طی چند سال اخیر توسط موسسه تحقیقات کشاورزی دیم معرفی شده‌اند در مقابل نژاد ۶ نیمه مقاوم ولی نسبت به بقیه نژادها مقاوم بودند. بقیه ژنوتیپ‌ها نسبت به این نژاد حساس یا خیلی حساس بودند. با توجه به جمعیت و پراکنش بالای نژادهای ۳،۲،۱و۴ در استان کرمانشاه می‌توان علاوه بر ارقام عادل وآزاد، لاین‌های Flip51-87-3C، ILC- 3274 و LMR-165 که نسبت به این نژادها مقاوم یا نیمه مقاوم بودند را هم به عنوان منابع مقاومت مطلوب برای منطقه توصیه کرد.

واژه‌های کلیدی: نخود، ارقام و لاین‌ها، بیماری سوختگی آسکوکیتائی، نژادها، مقاومت.

نویسنده مسئول: dshahriari37@gmail.com   تلفن: ۰۲۱۳۶۲۶۱۷۸۲

مقدمه

سوختگی اسکوکیتائی نخود در برخی سال‌ها با مساعد شدن رطوبت و دما، قادر است زیان‌های جبران‌ناپذیری به کشاورزان وارد کند. یکی از مؤثرترین روش‌های کنترل بیماری استفاده از ارقام مقاوم است. هرچند ارقام با مقاومت طولانی مدت بسیار نادرهستند، اما استفاده از ارقام مقاوم نخود، همچنان اقتصادی‌ترین و بهترین شیوه در استراتژی مدیریت کنترل این بیماری محسوب می‌شود (Peever *et al.,* 2004). اصلاح ارقام مقاوم نخود علیه بیماری برق‌زدگی به واسطه تغییرات در بیماری‌زایی *A. rabiei* بسیار مشکل است (Singh, 1990)، بدین جهت ابتدا بایستی شناخت دقیقی از تنوع ژنتیکی بیمارگر، بیوتیپ‌ها و نژادهای آن در مناطق آلوده داشته و سپس با شناسائی نژادهای غالب، ارقام مختلف را از نظر مقاومت به بیماری ارزیابی کرد تا رقم مناسب هر منطقه شناسائی شود. تنوع در بیماری‌زائی *A. rabiei* اولین بار در سال ۱۹۶۹ از هند گزارش شد (Katiyar and Sood, 1985) و سپس ویروگروال (Vir and Grewal, 1974) دو نژاد (نژاد ۱ و ۲) و یک بیوتیپ از نژاد ۲ را در هند گزارش کردند. ردی و کبابه (Reddy and Kabbabeh, 1985) شش نژاد فیزیولوژیک *A. rabiei* از سوریه و لبنان را با استفاده از شش لاین افتراقی نخود گزارش کردند. جان و ویز (Jan and Wiese, 1991) یازده پاتوتیپ *A. rabiei* در مناطق کشت نخود در امریکا را شناسایی کردند. ردی و سینگ (Reddy and Singh, 1993) با استفاده از سه لاین افتراقی شش نژاد در سوریه را گزارش کردند و یودوپا و ویگاند (Udupa and Weigand, 1998) جدایه‌های *A. rabiei* را براساس قدرت تهاجم به سه بیوتیپ I، II و III طبقه‌بندی کرد. ناواس کورتس و همکاران (Navas-cortes *et al.,* 1998) نیز یازده پاتوتیپ این قارچ را در هند، پاکستان، اسپانیا و امریکا شناسایی کردند.

از شانزده جدایه به دست آمده درکانادا، چهارده پاتوتیپ گزارش شد (Chongo *et al.,* 2004). بن‌زهرا و همکاران (Benzohra *et al.*, 2011) از منطقه شمال غربی الجزیره با استفاده از هفت رقم افتراقی نخود سه پاتوتیپ و شش نژاد فیزیولوژیک عامل بیماری را شناسائی کردند.

تورکان و دولر (Turkkan and Dolar, 2009) از ۶۴ جدایه *A. rabiei* جدا شده از پنج ناحیه ترکیه، با استفاده از هفت رقم افتراقی، شش نژاد فیزیولوژیک و سه بیوتیپ براساس قدرت تهاجم جدایه‌ها شناسایی کردند. در این بررسی پاتوتیپ I و III هرکدام به ترتیب با ۳۶ و ۲۳ جدایه در پنج ناحیه ترکیه شامل مدیترانه، آگان، جنوب شرقی آناتولی، آناتولی مرکزی و ناحیه دریای سیاه و پاتوتیپ II با تعداد سه

جدایه فقط در مدیترانه و ناحیه دریای سیاه وجود داشتند. در سال ۲۰۰۹ در پاکستان بیماریزائی ده جدایه قارچ *A. rabiei* را روی نوزده رقم نخود بررسی و بر اساس نتایج این تحقیق، رقم Venhar مقاومت بالایی نسبت به اکثر جدایه‌ها نشان داد (Rashad Ali *et al.,* 2009). اولین گزارش از مقاومت به سوختگی اسکوکیتایی در سال ۱۹۳۱ در منابع مقاومت نخود توسط سینک و همکاران منتشر شد (Singh *et al,* 1984). در ایکاردا (ICARDA) بیش از ۱۳۰۰ ژرم‌پلاسم نسبت به سوختگی اسکوکیتائی غربال شدند و تنها چند لاین مقاوم شناسایی شدند (Reddy and Singh, 1984). در یک ارزیابی بین‌المللی در لاین‌های مقاوم نخود واکنش‌های متفاوتی در نواحی مختلف دیده شد. تحقیقات سینک و همکاران (Singh *et al.*, 1981) تنوع بیمارگر را در کشورهای مختلف اثبات کرد. در سال ۱۹۸۶رقم ILC-482 با پتانسیل محصول بالا و بازارپسندی خوب معرفی و در اکثر مناطق کشت شد ولی مقاومت به بیماری برق زدگی در این رقم مدت زمان زیادی دوام نیاورد و در سال ۱۹۹۱ در مراکش و در سال ۱۹۹۳ در شمال غربی سوریه مقاومت خود را ازدست داد. لاین FLIP 82-150C نیز در مقابل فشار بالای بیماری تحمل نیاورد و مقاومت این رقم نیز در اپیدمی سال۱۹۹۳ سوریه شکسته شد (Singh and Mahendra, 1993). موارد مشابهی از خسارت این بیماری از دیگر کشورها نیز گزارش شده است به طوری که ارقامی که قبلاً مقاوم بودند حساس شدند. رقم ILC-3279 در بین ارقام فوق بهترین مقاومت را داشت، هرچند در مقابل نژادهای بیماریزای بسیار مهاجم مؤثر نبود. بنابراین کوشش برای یافتن ارقام با مقاومت پایدار در شرایط کاملاً مساعد برای گسترش بیماری متمرکز شد. متعاقباً ظهور نژادهای فیزیولوژیک قارچ توسط محققین مختلف نیز بررسی و گزارش شد (Qureshi and Alam, 1984؛ Porta Paglia *et al.*, 1972؛ Jan and Wiese, 1991). گزارش‌های موجود نشان می‌دهند که بیشتر کارهای اولیه بر پایه‌ی گزینش ارقام مقاوم در خلال همه‌گیری‌های طبیعی بوده است. هرچند در این بررسی‌ها تعداد زیادی ژنوتیپ‌های مقاوم در مقابل جدایه‌های محلی شناسایی شدند، اما تنها چند گزارش در دسترس است که بر روی مقاومت در مقابل چندین نژاد انجام شده است (Singh and Mahendra, 1993). در ایران نیز مطالعات گذشته به واسطه شناسایی نشدن نژادهای این قارچ، بر پایه بررسی ارقام درمقابل جدایه‌های محلی بوده است. کایزر (Kaiser, 1997)، رقمI-13 (از نوع دسی) را به عنوان رقم مقاوم در مقابل جدایه‌های جمع‌آوری شده از نقاط مختلف ایران معرفی کرد. این رقم در مقابل جدایه‌های جمع‌آوری شده از پاکستان مقاوم نبود. بعدها سینگ و ردی (Singh and Reddy, 1993) در ایکاردا

دریافتند که این رقم در مقابل جدایه‌های سوریه نیز حساس است. شهریاری و ایزدیار (Shahriari and Izadyar, 1998) اختلاف بیماریزای جدایه‌های مختلف *A. rabiei* را روی چهار رقم بیونیج، جم، هاشم و ILC-482 گزارش کردند. گروهی دیگر از محققین دوازده گروه بیماریزا از استان کرمانشاه گزارش کردند (Younesi *et al.*, 2003). در سال ۱۳۸۳، چهار گروه بیماریزا روی ده رقم افتراقی نخود از استان فارس گزارش شد (Mahmoodi and Banihashemi, 2004). بررسی‌های انجام شده روی ۳۰ جدایه از پنج استان غرب کشور از جمله کرمانشاه شانزده گروه بیماریزا در قالب شش نژاد فیزیولوژیک معرفی شدند (Ghiasi *et al.*, 2011). با استناد به منابع ذکر شده داشتن اطلاعات به روز در مورد پاتوتیپ‌ها و نژادهای غالب هر منطقه برای دستیابی به ارقام مقاوم ضروری است. در این بررسی سعی شد نژادهای فیزیولوژیک جدایه‌های *A. rabiei* جمع‌آوری شده از کرمانشاه که به عنوان کانون آمادگی بیماری سوختگی آسکوکیتائی شناخته شده است، شناسایی و واکنش برخی ژنوتیپ‌های نخود نسبت به این نژادها تعیین شود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری، کشت، خالص‌سازی و نگهداری نمونه‌ها

نمونه‌های ساقه، شاخه، برگ و غلاف آلوده گیاه نخود از پنج ناحیه استان کرمانشاه، شامل کنگاور، صحنه، کرمانشاه، اسلام‌آباد و سرپل ذهاب با فاصله ۳۰ تا ۴۰ کیلومتر از هم در سال‌های ۱۳۹۲ و ۱۳۹۳ جمع‌آوری شد. قطعات آلوده نمونه‌ها در محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد، به مدت یک الی دو دقیقه، ضدعفونی شدند. چهار تا پنج قطعه از هر نمونه در تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت PDA (Potato Dextrose Agar) کشت و در دمای ۱±۲۳ درجه سانتی‌گراد و دوره تناوب ۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی نگهداری شدند. پس از چهارده روز جدایه‌های رشد یافته، به روش تک اسپور خالص‌سازی و به ظروف پتری حاوی محیط آب-آگار (WA) منتقل شدند. جمعاً ۲۸ جدایه خالص شده جهت مطالعات بیشتر در محیط کشت مورب حاوی WA، در شرایط تاریکی و دمای پنج درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Ghiasi *et al*., 2011).

بررسی تفاوت‌های بیماریزائی جدایه‌های قارچ *A. rabiei*

بدین منظور جدایه‌های *A. rabiei* روی هفت رقم افتراقی نخود (ILC-72، ILC-1929، ILC-202، ILC-5928، ILC-194، PCH15 و ICC-3996 (تهیه شده از کلکسیون رژم‌پلاسم ICARDA و ICRISAT) مایه‌زنی شدند. در این آزمایش از هر رقم نخود، بذرهائی با اندازه مشابه در گلدان‌های حاوی ماسه کاشته شدند. بعد از ظهور گیاه، از هر رقم

چهار گیاهچه با اندازه یکسان در گلدان‌هائی با قطر دهانه ۱۱ سانتی‌متر حاوی مخلوط خاک، ماسه و کود (۱:۱: ۰/۵) منتقل (نشاء‌کاری) شدند. گلدان‌ها در دمای C° ۲±۲۲ با ۱۲ ساعت نور برای ۱۴ روز نگهداری شدند. این آزمایش در سه تکرار انجام شد. همزمان از حاشیه کشت جدایه‌های *A. rabiei* به دست آمده از مناطق مختلف استان (۲۸ جدایه) قطعاتی به قطر ۵ میلی‌متر جدا و در لوله‌های آزمایشی حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته، تکان داده شد تا سوسپانسیون یکنواخت از جدایه‌های مذکور به دست آید. مقدار یک میلی‌لیتر سوسپانسیون در سطح تشتک‌پتری حاوی محیط کشت CSA (Carrot Sucrose Agar) پخش و به مدت ۱۴ روز در دمای ۱±۲۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از مدت مذکور پیکنیدیوم‌های قارچ، به فراوانی روی محیط کشت به صورت یک لایه سیاه رنگ تشکیل شد. سوسپانسیون اسپور قارچ با افزودن آب مقطر سترون و مالش آرام اسکالپل سترون روی سطح محیط کشت تهیه شد و با استفاده از لام گلبول شمار (Hemacytometer) سوسپانسیون با رقت $۵×۱۰^{۶}$ اسپور در میلی‌لیتر تهیه شد. سری گلدان‌های حاوی گیاهچه‌های دو هفته‌ای مجموعه ارقام افتراقی نخود با استفاده از پاشش دستی سوسپانسیون هر یک از جدایه‌های قارچ به طور یکنواخت تا مرحله ریزش اولین قطره از سطح برگ (run-off) اسپورپاشی شد. پس از اسپورپاشی گلدان‌ها در محفظه پلاستیکی در دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، ۱۲ساعت نور و رطوبت نسبی ۱۰۰–۹۵ درصد قرار داده شدند (Benzohra *et al*., 2011).

ارزیابی واکنش ارقام افتراقی نخود مایه‌زنی شده نسبت به جدایه‌های *A. rabiei*

واکنش هفت رقم افتراقی نخود در مقابل ۲۸ جدایه قارچ *A. rabiei*، چهارده روز پس از مایه‌زنی گیاهچه‌ها، هنگامی‌که ۹۰ درصد گیاهچه‌های رقم حساس (ILC-1929) مرگ کامل را نشان دادند، تعیین شد. برای این کار ابتدا براساس علائم بیماری روی ارقام افتراقی تیپ‌های آلودگی ۱ تا ۹ مطابق روش ردی و سینگ (Reddy and Singh, 1984) اصلاح شده توسط بن زهرا و همکاران (Benzohra *et al*., 2011) یادداشت شد (جدول ۱). تیپ‌های آلودگی ۱تا ۳ به عنوان مقاوم (R) و تیپ‌های ۵ تا ۹ به عنوان حساس (S) در نظر گرفته شدند و در نهایت پس از تطبیق نتایج با الگوی نژادهای قارچ *A.rabeie* پیشنهاد شده توسط ردی و کبابه (Reddy and Kabbabeh., 1985) شناسائی و نامگذاری نژادهای فیزیولوژیک جدایه‌ها انجام شد.

ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های نخود نسبت به نژادهای قارچ *A.rabiei*

بدین منظور بذر ۴۸ ژنوتیپ نخود شامل ارقام زیر کشت، و لاین‌های پیشرفته و توده‌های

جدول ۱- تیپ‌های آلودگی برای ارزیابی واکنش ارقام افتراقی نخود در مقابل جدایه‌های قارچ *Ascochyta rabiei* (Reddy and Singh, 1984)

Table 1. Infection types used for assessment of chickpea differential cultivars response against *Ascochyta rabiei* isolates (Reddy and Singh, 1984)

Symptoms	علائم	تیپ آلودگی Infection type
No lesion is visible on the whole of the plants.	هیچ گونه لکه‌ای روی گیاه دیده نمی‌شود.	1
Visible lesions on less than 10% of the plants, the stems are not reached.	لکه‌ها واضح یا در کمتر از ۱۰٪ گیاهان، روی ساقه نیست	3
Lesions on 25% of the plants, with damage on approximately 10% of the stems.	لکه ها در ۲۵٪ از گیاهان با تخریب تقریباً ۱۰٪ ساقه‌ها	5
Lesions on all the plants, approximately 50% of the stems are reached, which results in the death of certain plants because of serious damage.	لکه‌ها روی تمام گیاهان،تقریباً در ۵۰٪ ساقه‌ها است. در نتیجه مرگ گیاهان به واسطه تخریب شدید	7
Lesion diffused on all the plants, the stems are reached in proportions higher than 50% with the death of the majority of the plants.	لکه در تمام گیاه منتشر شده و به بیش از ۵۰٪ از ساقه رسیده ومرگ اکثریت گیاهان	9

محلی در گلدان‌های یک کیلویی به تعداد سه بذر در هر گلدان کاشته شد. مایه‌زنی ژنوتیپ‌ها در مرحله شروع رشد برگ چهارم (چهارده روز بعد از کاشت) با اسپور نژادهای قارچ مطابق روش بن‌زهرا و همکاران (۲۰۱۱) انجام شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. ارزیابی تیپ آلودگی ژنوتیپ‌ها هنگامی که میزان آلودگی در رقم حساس (بیونیچ) به ۹۰ درصد رسید با استفاده از شاخص‌های ۱ تا ۹ تغییر یافته (Jan and Wiese , 1991) به شرح زیر انجام شد:

۱: هیچ‌گونه علائمی دیده نمی‌شود.

۲: لکه‌ها به میزان کم، کوچک، غیرواضح تا حدود ۲ میلی‌متر که گاهی روی بعضی قسمت‌های بوته دیده می‌شود.

۳: لکه‌ها کم، پراکنده، متفرق، بزرگ‌تر، واضح، تاحدود ۵ میلی‌متر اما محدود شده.

۴: لکه‌ها روی قسمتی یا تمام قسمت‌های گیاه دیده می‌شوند، طول لکه‌ها ممکن است بیش از ۵ میلی‌متر، شروع خمیدگی برگ‌ها.

۵: لکه‌ها معمولی، اندازه‌ها محدود نشده، روی تمام قسمت‌ها و همه گیاهان دیده می‌شوند، خمش، شکستگی شاخه‌ها کم تا متوسط.

۶: لکه‌ها مانند (۵) درجه آلودگی، خمش و شکستگی در شاخه‌های خشک به طور معمول دیده می‌شود و بعضی گیاهان ازبین رفته‌اند.

۷: لکه‌ها مانند (۵) خمش و شکستگی در شاخه‌های خشک به طور معمول دیده می‌شود وتا حدود ۲۵٪ گیاهان ازبین رفته‌اند.

۸: علائم مانند (۷)، اما حدود ۵۰٪ گیاهان ازبین رفته‌اند.

۹: علائم مانند (۷)، اما حدود ۱۰۰٪ گیاهان ازبین رفته‌اند.

پس از یادداشت‌برداری از تیپ آلودگی

ژنوتیپ‌ها، واکنش آن‌ها براساس تیپ آلودگی یادداشت شده مطابق (جدول ۲) تعیین شد (Basandra *et al.*, 2005).

جدول ۲- تعیین واکنش ژنوتیپ‌های نخود نسبت به قارچ *Ascochyta rabiei* بر اساس تیپ آلودگی

Table 2. Determination of responses of chickpea genotypes to *Ascochyta rabiei* based on infection types

تیپ آلودگی Infection type	واکنش	Response
1	بدون علائم = خیلی مقاوم	A= HR: Asymptomic= Highly Resistant
2 and 3	مقاوم	Resistant R:
4 and 5	نیمه مقاوم	MR: Moderately Resistant
6 and 7	حساس	S: Susceptible
8 and 9	خیلی حساس	HS: Highly Susceptible

نتایج و بحث

نژادهای شناسایی شده قارچ *A. rabiei* و پراکنش آن‌ها در استان کرمانشاه

بر اساس نمونه‌برداری‌های انجام شده از مزارع نخودکاری استان کرمانشاه در ماه‌های اردیبهشت و خرداد سال‌های ۱۳۹۲ و ۱۳۹۳ جمعاً از ۲۸ جدایه خالص قارچ عامل بیماری تهیه شد (جدول ۳) که بعد از مایه‌زنی روی گیاهچه‌های رقم حساس ILC-1929 علائم بیماری یک بعد هفته ظاهر شد. در ارزیابی واکنش هفت رقم افتراقی نسبت به جدایه‌ها شش نژاد فیزیولوژیک در استان کرمانشاه شناسایی شد (جدول ۳). نژادهای ۱و ۳ با چهارده جدایه (۵۰٪) بیشترین فراوانی و پراکنش را داشتند و نژادهای ۲ و۴ با نه جدایه (۳۲/۱٪) و نژادهای ۶ و ۵ به ترتیب با سه جدایه (۱۰/۶٪) و دو جدایه (۷/۲٪)کمترین جمعیت و فراوانی در استان را داشتند. در این بررسی نژاد ۶ (جدایه‌های KR14، KR20 و KR29) فقط در منطقه سرارود کرمانشاه و در ناحیه محدودی مشاهده شد. نژادهای ۱، ۲ و۳ با تعداد ۲۳ و فراوانی ۶۷/۸ درصد، پراکنش وسیعی در استان کرمانشاه داشتند (جدول ۴).

ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های نخود نسبت به نژادهای *A. rabiei*

واکنش ۴۸ ژنوتیپ نخود در برابر شش نژاد فیزیولوژیک *A. rabiei* بعد از ظهور علایم روی ارقام حساس بیونیچ (شاهد)، ILC-1929 و ILC-263 و هنگامی که آلودگی در این ارقام به ۹۰ درصد رسید، تعیین شد (جدول ۵). براساس تیپ آلودگی و واکنش آن‌ها، ارقام نخود در پنج گروه خیلی مقاوم (A)، مقاوم (R)، نیمه مقاوم (MR)، حساس (S) و خیلی حساس (HS) طبقه‌بندی شدند (جدول ۶). نتایج حاصله از این بررسی نشان داد ارقام عادل و آزاد در مقابل نژاد ۶ دارای واکنش نیمه مقاوم (MR) ولی بقیه ژنوتیپ‌ها به این نژاد حساس یا

جدول ۳- واکنش ارقام افتراقی نخود به جدایه‌های مختلف *Ascochyta rabiei* و نژادهای تعیین شده برای آن‌ها

Table 3. Response of chickpea differential cuffivars to different isolates of *Ascochyta rabiei* and races determined for them

جدایه ها Isolates	Differential cultivars ارقام افتراقی Pch-15	ILC-194	ICC-3996	ILC-72	ILC-202	ILC-5928	ILC-1929	نژاد Race
KR3	S	S	S	S	R	R	S	5
KR4	S	R	R	R	R	R	S	2
KR5	R	R	R	R	R	R	S	1
KR7	R	R	R	R	R	R	S	1
KR8	R	R	R	R	R	R	S	1
KR9	S	R	R	R	R	R	S	2
KR10	S	S	S	R	R	R	S	4
KR11	S	S	S	S	R	R	S	5
KR12	R	R	R	R	R	R	S	1
KR14	S	S	S	S	S	R	S	6
KR15	S	R	R	R	R	R	S	2
KR18	S	S	R	R	R	S	S	3
KR19	R	R	R	R	R	R	S	1
KR20	S	S	S	S	S	R	S	6
KR22	S	S	S	R	R	R	S	4
KR24	R	R	R	R	R	R	S	1
KR25	S	S	R	R	R	S	S	3
KR26	S	S	S	R	R	R	S	4
KR28	S	R	R	R	R	R	S	2
KR29	S	S	S	S	S	R	S	6
KR32	S	S	R	R	R	S	S	3
KR33	R	R	R	R	R	R	S	1
KR36	S	S	R	R	R	S	S	3
KR42	S	S	R	R	R	S	S	3
KR43	S	S	R	R	R	S	S	3
KR46	S	R	R	R	R	R	S	2
KR62	S	S	R	R	R	S	S	3
KR65	S	S	S	R	R	R	S	4

R: Resistant مقاوم S: Susceptible حساس

جدول ۴- واکنش ارقام افتراقی نخود به نژادهای تعیین شده *Ascochyta rabiei*، تعدادو فراوانی آن‌ها در استان کرمانشاه

Table 4. Response of chickpea differential cultivars to determined races of Ascochyta rabiei, their number and frequency in Kermanshah province

نژاد Race	Differential cultivars ارقام افتراقی Pch-15	ILC-194	ICC-3996	ILC-72	ILC-202	ILC-5928	ILC-1929	تعداد جدایه Number of isolates	فراوانی Frequency (%)
1	R	R	R	R	R	R	S	7	25.00
2	S	R	R	R	R	R	S	5	17.85
3	S	S	R	R	R	S	S	7	25.00
4	S	S	S	R	R	R	S	4	14.40
5	S	S	S	S	R	R	S	2	7.20
6	S	S	S	S	S	R	S	3	10.00

R: Resistantمقاوم S: Susceptible:حساس

خیلی حساس بودند. این دو رقم در مقابل نژاد ۵ نیز واکنش مقاومت (R) نشان داد در حالی که لاین‌های Flip04-20C، 8EL93LM24460 و رقم آرمان واکنش نیمه مقاوم (MR) داشتند و بقیه حساس یا خیلی حساس بودند. در مقابل نژاد ۴، لاین‌های Flip51-87-3C، ILC-3279،

جدول ۵- تیپ آلودگی و واکنش ژنوتیپ‌های نخود نسبت به نژادهای قارچ *Ascochyta rabiei* در شرایط گلخانه‌ای

Table 5. Infection type and response of chickpea genotypes to determined races of *Ascochyta rabiei* in greenhouse conditions

ژنوتیپ Genotype	شجره(منشاء) Pedigree-(Origin)	Races نژادها 1		2		3		4		5		6	
		IT	Response	IT	Response	IT	Response	IT	Response	IT	Response	IT	Response
Flip03-27C	X98TH86/[(ILC267XFLIP89-4C)XHB-1])XS95345-(ICARDA)	7	S	8	HS	8	HS	9	HS	9	HS	9	HS
Flip04-20C	×00^{1H}35/FLIP 98-25C×S99442-(ICARDA)	1	A	1	A	1	A	3	R	5	MR	8	HS
Flip2005-1C	X99TH151/ILC3805xILC3397	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
Flip2005-3C	x99TH154/ILC5901xILC3397	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
Flip2005-5C	X99TH154/ILC5901XILC3397-(ICARDA)	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
Flip51-87-3C	Drought tolerance check-(ICARDA)	1	A	3	R	1	A	3	R	7	S	9	HS
8EL93LM24460	Not traced-(ICARDA)	1	A	3	R	3	R	5	MR	5	MR	8	HS
LIC-3279	Landrace/Long term check-(ICARDA)	1	A	3	MR	1	HR	3	S	7	S	9	S
LIC-3397	Not traced-(ICARDA)	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
LIC-1929	Not traced-(ICARDA)	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
LIC-533	Not traced-(ICARDA)	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
LIC-263	Susceptible Ascochyta blight check- (ICARDA)	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
LIC482	Drought tolerance check-(Iran)	1	A	3	R	3	R	7	S	9	HS	9	HS
LIC-588	Short term check-(ICARDA)	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
ICC-V2	Short term check-(ICARDA)	3	R	3	MR	5	MR	7	S	8	HS	9	HS
LMR-29	X99TH151/ILC3805xILC5901-(ICARDA)	4	MR	9	HS	9	HS	8	HS	9	HS	9	HS
LMR-81	X99TH153/ILC3805xILC5309	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
LMR-134	X99TH154/ILC5901Xilc3397-	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
LMR-144	X99TH154/ILC5901XILC3397-(ICARDA)	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
LMR-153	X99TH151/ILC3805xILC3397	7	R	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
LMR-159	X99TH154/ILC5901XILC3397-(ICARDA)	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
LMR-165	x99TH155/ILC5901Xilc5309-(ICARDA)	1	A	3	R	3	R	3	R	7	S	7	S
L-5	Landrace(Torbat-North east of Iran)	7	S	7	S	9	HS	9	HS	9	HS	9	S
L-7	Landrace(Khoy-north west of Iran)	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
L-13	Landrace(Karaj-North of Iran)	7	S	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
L-17	Landrace-(Iran)	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
L-18	Landrace(Torbat-North east of Iran)	5	MR	7	S	7	S	7	S	9	HS	9	HS
L-21	Landrace(Torbat-North east of Iran)	7	S	9	HS	8	HS	9	HS	9	HS	9	HS
L-26	Landrace(Turkey)	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
L-28	Landrace(Jahrom-south of Iran)	5	MR	7	S	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
L-32	Landrace(Khoy-north west of Iran)	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
L-33	Landrace(Moghan-north of Iran)	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS

IT: Infection type تیپ آلودگی

A: Highly Resistant; R: Resistant; MR: Moderately Resistant; S: Susceptible; HS: Highly Susceptible.

Table 5. Continiued

ادامه جدول ۵

ژنوتیپ Genotype	شجره(منشاء) Pedigree-(Origin)	Races نژادها 1 IT	1 Response	2 IT	2 Response	3 IT	3 Response	4 IT	4 Response	5 IT	5 Response	6 IT	6 Response
L-37	Landrace-(Iran)	3	R	4	MR	5	MR	9	HS	9	HS	9	HS
L-38	Landrace(Torbat-North east of Iran)	7	S	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
L-45	Landrace(Kerman-south of Iran)	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
L-50	Landrace(Ardabil-north of Iran)	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
L-58	Landrace(Cupreous)	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
L-60	Landrace(Cupreous)	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
L-68	Landrace(Nayshabor-north of Iran)	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
L-69	Landrace(Ormiyed-north west of Iran)	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	۹	HS	9	HS
Hashem	Not traced-Iran	1	A	3	R	3	R	6	S	7	S	9	HS
Kaka	Not traced-Iran	3	R	5	MR	4	MR	9	HS	9	HS	9	HS
Jam	Not traced-Iran	3	R	7	S	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
Pirooz	Not traced-Iran	8	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS
Azad	Not traced-Iran	1	A	1	A	1	A	3	R	3	R	5	MR
Arman	Not traced-Iran	3	R	5	MR	5	MR	5	MR	5	MR	7	S
Adel	Not traced-Iran	1	A	1	A	3	R	3	R	3	R	4	MR
Bevenij	Not traced-Iran	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS	9	HS

IT: Infection type تیپ آلودگی

A: Highly Resistant; R: Resistant; MR: Moderately Resistant; S: Susceptible; HS: Highly Susceptible

جدول۶ – تعداد ژنوتیپ‌های نخود با واکنش‌های مختلف نسبت به نژادهای *Ascochyta rabiei*

Table 6. Number of chickpea genotypes with different responses to races of *Ascochyta rabiei*

Response type	نوع واکنش	Races نژادها 1	2	3	4	5	6
Asymptomic (Highly resistant)	بدون علائم (خیلی مقاوم)	9	3	4	0	0	0
Resistant	مقاوم	5	7	5	6	2	0
Moderately resistant	نیمه مقاوم	3	3	4	6	3	2
Susceptible	حساس	6	4	1	2	3	2
Highly Susceptible	خیلی حساس	25	31	35	35	40	45

LMR-165 و ارقام آزاد و عادل مقاوم (R) ولی بقیه ژنوتیپ‌ها حساس یا خیلی حساس ارزیابی شدند. در مقابل نژاد ۳، لاین‌های Flip04-20C، 51-87-3C Flip و رقم آزاد خیلی مقاوم (A) و لاین‌های 8EL93LM24460، ILC-482، LMR-165، ارقام هاشم و عادل مقاوم (R) ارزیابی شدند. پنج ژنوتیپ نسبت به این نژاد نیمه مقاوم و ۳۵ ژنوتیپ دیگر حساس یا خیلی حساس بودند. در برابر نژاد ۲، دوازده ژنوتیپ خیلی مقاوم (A)، مقاوم (R) و نیمه مقاوم (MR) ارزیابی شدند، در حالی‌که ۲۶رقم باقیمانده حساس یا خیلی حساس بودند. در مقابل نژاد ۱ هم ۱۷ژنوتیپ خیلی مقاوم (A)، مقاوم (R) و نیمه مقاوم (MR) ارزیابی شدند، در حالی‌که ۳۱ رقم باقیمانده به عنوان حساس یا خیلی حساس تعیین شدند (جدول‌های ۵ و ۶).

هرچند از آغاز دهه ۶۰ میلادی برای مقابله با این بیماری از ارقام مقاوم مختلفی استفاده شده است، ولی نبود اطلاعات کامل از تنوع ژنتیکی قارچ، همواره برنامه به‌نژادی را با مشکل مواجه کرده است، به گونه‌ای که مقاومت ارقام اصلاح شده، پس از مدتی شکسته شده و از سوی دیگر به دلیل تفاوت تنوع این بیمارگر در مناطق مختلف، واکنش ارقام مقاوم در تمام مناطق یکسان نبوده است (Porta-Puglia *et al.,* 1997). در این بررسی ۲۸ جدایه قارچ *A. rabiei* جمع‌آوری شده از استان کرمانشاه، بر اساس واکنش هفت رقم افتراقی نخود در نهایت شش نژاد مختلف شناسائی شدند. ارقام افتراقی نخود مورد استفاده در این تحقیق همان ارقام افتراقی معرفی شده توسط Singh (1990) بودند که همچنان به عنوان ارقام افتراقی رایج در جهان به کار می‌روند. نتایج این تحقیق، با شش نژاد معرفی شده توسط سینگ (۱۹۹۰) مطابقت داشت. شهریاری و ایزدیار (Shahriari and Izadyar, 2000) وجود شش نژاد با دامنه گسترش زیاد از مناطق شمال غرب کشور را گزارش کردند. همچنین وجود نژاد شش نیز از گچساران گزارش شده است (Pouralibaba *et al.,* 2008).

در بررسی دیگری روی پاتوتیپ ۶ (نژاد ۶)، دلیل بالا بودن شدت بیماریزایی این پاتوتیپ را به وجود توکسین سولانوپیرون A نسبت داده‌اند (Shahbazi *et al.,* 2004). در این بررسی، نژاد ۱ به عنوان نژادی با قدرت بیماریزائی ضعیف شناسائی شد که با تحقیقات سینگ (۱۹۹۰) که آن را به عنوان کم‌آزارترین نژاد معرفی کرده مطابقت دارد. در این تحقیق ارقام عادل، آزاد در مقابل نژاد ۶، واکنش نیمه مقاوم (MR) نشان دادند درحالی‌که نسبت به بقیه نژادها (۳،۲،۱و۴) مقاوم (R) یا خیلی مقاوم (A) بودند. این نتایج با تحقیقات صباغ پور و همکاران (Sabbaghpour *et al.*, 2010) که رقم آزاد را مقاوم به بیماری سوختگی اسکوکیتایی با عملکرد بالا معرفی کرده است تطبیق دارد. در صورتی که این ارقام از نظر عملکرد و

سازگاری با مناطق مختلف کشت ایران مناسب شوند.

باشند، می‌توانند به عنوان منـابع مقاومـت معرفـی

References

Basandrai, S. P., Kishore, G. K., Crouch, J. H., and Basandrai, D. 2005. Cultural, morphological and pathological variation in Indian isolates of *Ascochyta rabiei* the chickpea blight pathogen. Plant Pathology Journal 21(3): 207-213.

Benzohra, I. E., Baubekeur, S. B., Labdi, M., and Mokhtar, Y. B. 2011. Identification of pathotypes and physiological races in *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., the agent of ascochyta blight in chickpea (*Cicer arietinum*) in Algeria. World Applied Science Journal 15 (7): 978-984.

Chongo, G., Gossen, B. D., Buchwaldt, L., Adhikari, T., and Rimmer, S. R. 2004. Genetic diversity of *Ascochyta rabiei* in Canada. Plant Disease 88: 4-10.

Ghiasi, S., Razavi, M., and Shahriari, D. 2011. Study on pathogenetic and molecular variability in some isolates of *Ascochyta arabiei* casual agent of ascochyta blight of chickpea in Iran. Applied Entomology and Phytopathology 79 (2): 199-218.

Jan, H., and Wiese, M. W. 1991. Virulence forms of *Ascochyta rabiei* affecting chickpea in the Palouse. Plant Disease 75: 904-906.

Kaiser, W. J. 1997. Telemorph of *Ascochyta rabiei* and its significance in breeding chickpea. pp. 3-21. In: (Udupa, S. M., and Weigand, F. (eds.) DNA Markers and Breading for Resistance to Ascochyta Blight in Chickpea. Proceedings of the Symposium on Application of DNA Fingerprinting for Crop Improvement: Marker Assisted Selection of Chickpea for Sustainable Agriculture in the Dry Areas. 11-12 April 1994, ICARDA, Aleppo, Syria.

Katiyar, R. P., and Sood, O. P. 1985. Screening chickpea for resistanse to ascochyta blight. International Chickpea Newsletter 13: 19-20.

Mahmoodi, F., and Banihashemi, Z. 2004. Distribution of mating type teleomorph formation and genetic diversity in *Diddymella rabiei* the causal agent of chickpea blight in Fars province. Iranian Journal of Plant Pathology 40(2):15-30 (in Persian).

Navas-Cortes, J. A., Peres-Artes, E., Jimenes-Diaz, R. M., Llobbel, A., Bainbridge, B. W., and Heale, J. B. 1998. Mating type, pathotype and RAPDs analysis in

Didymella rabiei, the agent of ascochyta blight of chickpea. Phytoparasitica 26(3): 199-212.

Peever, T. L., Salimath, S. S., Su, G., Kaiser, W. J., and Muehlbaur, J. 2004. Historical and contemporary multi locus population structure of *Ascochyta rabiei* (telemorph: *Didymella rabiei*) in the Pacific Northwest of the United States. Molecular Ecology 13: 291-309.

Porta-Puglia, A., Inantino, A., Crino, P., Angelini, R., and Venora, G. 1997. Ascochyta blight of chickpea: present status and prospects. Pakistan Journal of Phytopathology 9: 9-18.

Pouralibaba, H. R., Mahmoudi, F., Keshavarz, K., and Nourallahi, Kh. 2008. Identification of pathotypes of *Didymella rabiei* causing agent of chickpea blight disease, in different parts of Iran using trap nursery. Iranian Journal of Plant Pathology 44 (2): 170-175.

Qureshi, S. H., and Alam, S. S. 1984. Pathogenic behavior of *Ascochyta rabiei* isolates on different cultivars of chickpea in Pakistan. International Chickpea Newsletter 11: 29-30.

Rashad Ali, S., Iqbal, M., Iqbal, U., Ghafoor, A., and Akram, A. 2009. Pathogenic diversity in *Ascochyta rabiei*(Pass.) Lib. of chickpea. Pakistan Journal of Botany 41(1): 413-419.

Reddy, M. V., and Kabbabeh, S. 1985. Pathogenic variability in *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. in Syria and Lebanon. Phytopathologia Mediterranea 24: 265-266.

Reddy, M. V., and Singh, K. B. 1984. Evaluation of a world collection of chickpea germ plasm accessions for resistance to ascochyta blight. Plant Disease 68: 900-910.

Reddy, M. V., and Singh, K. B. 1993. Rate-reducing resistance to *Ascochyta rabiei* in chickpeas. Plant Disease 77: 231-233.

Sabaghpour, H., Safikhani, M., Pezeshkpour, P., Jahangiri, A., Sarparast, R., Karami, I., Pour Siahbidi, M., Shahriari, D., Mahmoudi, F., and Keshavarz, K. 2010. Azad, a new chickpea cultivar for dry land moderate and semi warm climate of Iran. Seed and Plant Improvement Journal. 26-1 (2): 293-295 (in Persian).

Shahbazi, S., Mozafari, J., and Alizadeh, A. 2004. Extraction of solanapyrone A, B and C from Iranian isolates of *Ascochyta rabiei* by HPLC. Proceedings of the 16th

Iranian Plant Protection Congress, University of Tabriz, Tabraz, Iran. Page 172 (in Persian).

Shahriari, D., and Izadyar, M. 1998. Study of the pathogenical variation of *Ascochyta rabiei* on some chickpea cultivar. Proceedings of the 13th Iranian Plant Protection Congress, Karaj, Iran. Page 148 (in Persian).

Singh, G., 1990. Identification and designation of physiological races of *Ascochyta rabiei* in India. Indian Phytopathology 43: 48-52.

Singh, K. B., Hawatin, G. C., Nene, Y. I., and Reddy, M. V. 1981. Resistance in chickpeas to *Ascochyta rabiei*. Plant Disease 65: 586-587.

Singh, K.B., Reddy, M.V., and Nene, Y. I. 1984. International testing of chickpeas for resistance to *Ascochyta rabiei*. Plant Disease 68: 782-784.

Singh, R., and Mahendra, P. 1993. Screening of chickpea genotypes against five races of *Ascochyta rabiei* causing chickpea blight. Indian Phytopathology 46(4): 369-373.

Türkkan, M., and Dolar, F.S. 2009. Determination of pathogenic variability of *Didymella rabiei*, the agent of ascochyta blight of chickpea in Turkey. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 33: 585-591.

Udupa, S. M., and Weigand, **F. 1997.** Pathotyping of *Ascochyta rabiei* isolates of Syria. DNA markers and breeding for resistance to ascochyta blight in chickpea. Proceedings of the Symposium on Application of DNA Fingerprinting for Crop Improvement: Marker Assisted Selection of Chickpea for Sustainable Agriculture in The Dry Areas (Udupa, S.M. and Weigand, F. eds.). ICARDA. 11-12 April 1994, Aleppo, Syria.

Vir, S., and Grewal, J. S. 1974. Physiologic specialization in *Ascochyta rabiei,* the causal organism of gram blight. Indian Phytopathology 27: 355-360.

Younesi, H., Okhovvat, S. M., Hedjaroude, Gh. A., Zad, S. J., Taleie, A. R., and Zamani, M. 2003. Virulence variability of *Ascochyta rabiei* isolates on chickpea cultivars in Kermanshah province. Iranian Journal of Plant Pathology 39(2): 213-230 (in Persian).